



1762

0700
PATENT 2

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of: Jue-Jei Sheu, Lin-Lin Chen, Emma Chen, Benjamin Liang

Serial No: 09/832,048

Attorney Docket No: OR0105BI

04/09/01

Group Art Unit:

Examiner:

For: A METHOD OF UTILIZING RIBONUCLEIC
ACID AS MARKERS FOR PRODUCT ANTI-
COUNTERFEIT LABELING AND
VERIFICATIONRECEIVED
JUN - 5 2001
10 11 00 AM '01SUBMISSION OF SUBSTITUTE DECLARATION TO CLAIM FOREIGN PRIORITYHonorable Commissioner of Patents and Trademarks
Washington, D.C. 20231

Sir:

Applicant is submitting as attached herewith a substitute declaration and the necessary foreign priority document to claim foreign priority. If the Examiner has any question, he or she is invited to call or fax Applicant's counsel at the telephone numbers below. Please charge the necessary fee to Deposit Account No. 50-1260.

Respectfully Submitted,

05/12/01

Date

PTO Customer No. 022192

W. Wayne Liauh, Reg. No. 34,212
Law Office of Liauh and Associates
4224 Waialae Ave., Suite 5-388
Honolulu, HI 96816
Telephone: (808) 739-2978
Telecopier: (808) 735-2978CERTIFICATE OF MAILING (37 CFR §1.8a)

I hereby certify that this paper (along with any documents referred as being attached or enclosed) is being deposited with the United States Postal Service on the date shown below with sufficient postage as first class mail in an envelop addressed to: The Commissioner of Patents and Trademarks, Washington, D.C., 20231.

(Type or print name of person mailing paper)

Date

05/12/01

(Signature of person mailing paper)



证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日： 2000 05 18

申 请 号： 00 1 07580.2

申 请 类 别： 发明

发明创造名称： 核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法

申 请 人： 博微生物科技股份有限公司

发明人或设计人： 许俊杰； 陈苓苓； 陈素秋； 梁明华

RECEIVED
JUN-5 2001
TC 1700 MAIL ROOM

中华人民共和国
国家知识产权局局长

王 景 川

2001 年 3 月 12 日

1、一种核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是将核糖核酸保存于介质中，将含有核糖核酸的介质直接标记于目标物上或目标物内，
5 或是将含有核糖核酸的介质加于液体或固体中后再用于标记；检验时利用溶剂回收及聚合酶连锁反应放大核糖核酸的方式来达到认证被标记的目标物的真伪。

2、如权利要求 1 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述核糖核酸为去氧核糖核酸或核糖核酸。

10 3、如权利要求 1 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所称的核糖核酸来自动物、植物、细菌，病毒或由人工合成载体或片段。

4、如权利要求 1 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述介质是指惰性且不对目标物发生交互作用的物质。

15 5、如权利要求 1 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述介质是指可与核糖核酸混合的聚合物。

6、如权利要求 5 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所称的聚合物为压克力或塑胶。

20 7、如权利要求 1 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述液体或固体是指墨水、胶水或聚合物。

8、如权利要求 7 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所称的墨水为油性或水性。

9、如权利要求 7 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所称的粘着剂为油性或水性。

25 10、如权利要求 7 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所称的聚合物为压克力或塑胶。

11、如权利要求 1 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述回收的方法是以有机溶剂或无机溶剂将核糖核酸萃取回收。

00.05.18

12、如权利要求 11 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述有机溶剂为缓冲剂、甲苯、煤油、酒精、丙酮或氯仿。

13、如权利要求 11 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述无机溶剂为水。

5 14、如权利要求 12 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述缓冲剂为 Tris-EDTA 缓冲剂。

15、如权利要求 1 所述的核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是所述聚合酶连锁反应放大核糖核酸的方法是为单次或多次聚合酶连锁反应。

10

核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法

5 本发明是为一种标记物品以达到防伪目的的方法，特别指一种利用核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，制作时将混有核糖核酸的介质标记于目标物上，检验时将介质取下，使用溶剂将核糖核酸萃取回收，再以聚合酶连锁反应将核糖核酸信号放大检验，根据结果以判别被标记的目标物的真伪性。

在产品制造与行销上经常发生的问题之一就是产品仿冒及伪造的问题。仿冒及伪造品假借真品的外观、品牌，利用真品的形象以达牟利的目的；因为仿冒品及伪造品通常只是外观及品牌相似，但却是以低省的材质所制成；也有销售近似真品品质的伪造品，但因不须花费广告及行销的成本，因而可以较低的价格夺取真品的市场。除此之外，凡具有高单价的物品，如名画珠宝首饰及纪念品等，及具有金融功能及价值的物品，如信用卡、存折及有价证券等亦经常面临伪造仿冒的问题。诸如此类问题不但有价证券等经常面临伪造仿冒的物品，如信用卡、存折及有价证券等亦经常面临伪造仿冒的问题。诸如此类问题不但会破坏真品的商誉及影响真品的销售，更有甚者会阻碍一个国家的金融秩序及发明创新的能力，所以如何打击仿冒及伪造品，防止真品被仿造，实有其需求及必要性。现有防止伪造的方法除了以本身明显特殊的造型及品质搏取消费者信任外，也有以外加的方式来达到防伪的目的，譬如存折上的磁性条码，又如金融卡上的镭射标签图案，和在特殊波长下才显示的暗记等，也有以蛋白质抗体荧光物质等加诸于受保护的物体上，以特殊方式检验以达验明正身的目的；诸如此类手段用意皆在建立一技术或方法的障碍使得制造仿冒品及伪造品者不易轻易模仿，已知的方法所提供的是技术屏障的保护，但此类保护仍可被具有相同技术能力者所轻易模仿。

故本发明的目的提供一种更具专一性，且无法被具有相同技术能力者所仿冒的防伪方法。

为此，本发明乃利用核糖核酸 (ribonucleic acid RNA) 具有序列专一性的特性，将核糖核酸与介持混和后，带有核糖核酸的介质可被涂布于易被防伪的目标物上或渗于目标物内，再检验目标物上带有的核糖核酸，即可验明目标物是否为当初所标记。

- 5 介质具有的特性为能与核糖核酸充分混合，且不属于目标物的一部份，核糖核酸的组成经过设计，可具有特定的长度及序列，而且此序列只有在侦测时使用特定的聚合酶连锁反应引子才可侦测验证介质带有的核糖核酸真伪。

- 10 本发明的具体技术方案是：一种核糖核酸作为产品防伪标记及验证的方法，其特征是将核糖核酸保存于介质中，将含有核糖核酸的介质直接标记于目标物上或目标物内，或是将含有核糖核酸的介质加于液体或固体中后再用于标记；检验时利用溶剂回收及聚合酶连锁反应放大核糖核酸的方式来达到认证被标记的目标物的真伪。

- 15 本发明的特征还在于所述核糖核酸为去氧核糖核酸或核糖核酸。所称的核糖核酸来自动物、植物、细菌，病毒或由人工合成载体或片段。所述介质是指惰性且不对目标物发生交互作用的物质。所述介质是指可与核糖核酸混合的聚合物。所称的聚合物为压克力 (acrylic 丙烯酸塑料) 或塑胶。所述液体或固体是指墨水、胶水或聚合物。所称的墨水为油性或水性。所称的粘着剂为油性或水性。所称的聚合物为压克力或塑胶。所述回收的方法是以有机溶剂或无机溶剂将核糖核酸萃取回收。所述有机溶剂为缓冲剂、甲苯、煤油、酒精、丙酮或氯仿。所述无机溶剂为水。所述缓冲剂为 TE (Tris-EDTA) 缓冲剂。所述聚合酶连锁反应放大核糖核酸的方法是为单
20 次或多次 (nested) 聚合酶连锁反应。

- 25 操作时先将介质溶于溶剂中，使介质液化，再将定量且已知序列的核糖核酸加入介质溶液中均匀混合，此时带有核糖核酸的介质溶液可用于涂布或填充目标物；待溶剂蒸发后目标物即带有混着核糖核酸的介质，一旦要验证物体是否为带有特定核糖核酸序列的目标物时，可将目标物上的介质取一小部份溶于溶剂中，再加入另一具高核糖核酸溶解度但不影响目标

物的溶剂使之充分混合，此时大部份核糖核酸会溶于高核糖核酸溶解度的溶剂内，再使用离心的方法将不同溶剂分层分离取出，此时经萃取出的核糖核酸浓度已足够以聚合酶连锁反应的特定引子来验证核糖核酸的真伪；藉此，若受检的目标物带有原始放入的核糖核酸，则聚合酶连锁反应会将原始放入的核糖核酸放大成为数百万倍大小相同的核糖核酸，反之受检物若不带有原始的核糖核酸，则聚合酶连锁反应无法进行核糖核酸的放大反应，故由产物大小及数量的比对就可辨别要辨识的目标物是否为当初所标示。

因为核糖核酸序列具有专一性，在进行聚合酶连锁反应验证时，只有以专一的引子进行反应才能得到正确的核酸大小，又因为混入介质的核糖核酸浓度极低，无法以基因转殖的方式得知放入核酸的序列及尺寸大小，故而保密性及专一性都极高。

下面进一步详细阐述本发明。

本发明乃利用核糖核酸所具有的序列特性，除非知道序列两端内容否则无法复制的原理，其是将核糖核酸保存于介质中，再将介质标记于目标物上当作身份记号。在某一时间想要验证目标物的真伪时，只需将介质取下检验内含的核糖核酸即可判别目标物的真伪。

所谓核糖核酸乃是去氧核糖核酸与核糖核酸的通称，核糖核酸的来源可以来自动物、植物、细菌、病毒等有机生物，但也可以人工合成载体或是片段的核糖核酸，核糖核酸的特性在于它所具有的特殊序列可以使用对应的引子，以聚合酶连锁反应来加以复制，但先决条件是必须知道所要复制核酸片段两端的序列才能设计适当的引子来进行复制反应。

所谓的介质就是用来包含核糖核酸并用来附着或混合于其他物体的中介物质，好的介质必须要能与核糖核酸均匀的混合，且要能遮护核糖核酸不受破坏，介质也要能具可塑性及适当的强度并能容易的附着于被标记的物体上。

所谓目标物就是被标记防伪的物品，可以是液体或是固体；液体者如润滑油、汽油等油品；固体者如古董、名画、珠宝首饰、金融信用卡等具有纪念或有实际价值的物品，都可以是目标物。

标记的方法可以是将介质涂布于目标物的表面，例如信用卡，可以是混合于物体内部，例如水墨油画，可以是填充于物体内部，例如印章等，可因实际需要加以设计。

以下就本发明的实施例加以说明。

- 5 图谱 1 显示以聚碳酸酯介质，将 800bp 去氧核糖核酸标记于塑胶膜上，经回收后以聚合酶连锁反应将信号放大再经电泳分离后染色得到 800bp 去氧核糖核酸的实施例。

图谱 2 显示以聚碳酸酯为介质，将人类去氧核糖核酸基因组标记于塑胶膜上，经回收后以聚合酶连锁反应将信号放大再经电泳分离后染色得到 10 600bp 去氧核糖核酸的实施例。

实施例 1：以聚碳酸酯为介质将 800bp 去氧核糖核酸标记于塑胶膜上。

- | | |
|---------|--------------------|
| 材料：聚碳酸酯 | 台湾杜邦 polycarbonate |
| 95%酒精， | 中华药典 |
| 丙酮 | 台湾默克 UN1090 |
| 15 氯仿 | 台湾默克 UN1888 |

将聚合酶连锁反应所合成的 800bp 的去氧核糖核酸以酒精加丙酮溶解之，再与溶于氯仿的聚碳酸酯充分混合后涂抹于塑胶膜上。干燥后放置于 40℃ 冰箱、阴暗处、或曝晒于阳光下一天后进行回收。回收时剪下少量的膜片，以氯仿溶解之，再以缓冲液充分混合并离心后取得澄清液。取少量 20 澄清液做为模板进行聚合酶连锁反应。聚合酶连锁反应的产物再经电泳分离后染色之。请参阅图谱 1，显示以聚碳酸酯为介质，800bp 去氧核糖核酸为标记的实施例。由左至右 L1 为 100bp 去氧核糖核酸标准，L2 为阴暗处理，L3、L4 及 L5 为曝晒于阳光下处理，L6、L7 及 L8 为 40℃ 冰箱处理。结果显示所有处理皆如所预期的结果顺利回收 800bp 去氧核糖核酸。

- 25 实施例 2：以聚碳酸酯为介质将人类去氧核糖核酸基因组标记于塑胶膜上。

材料：聚碳酸酯	台湾杜邦 polycarbonate
95%酒精，	中华药典

00.05.18

(0

丙酮

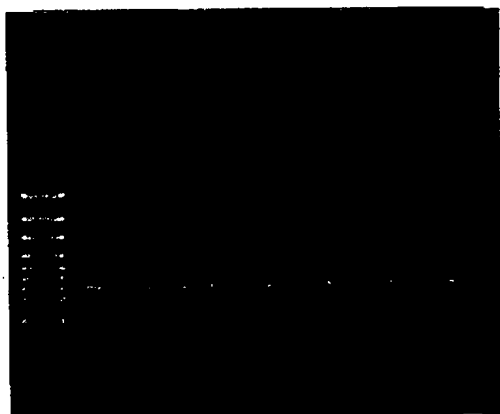
台湾默克 UN1090

氯仿

台湾默克 UN1888

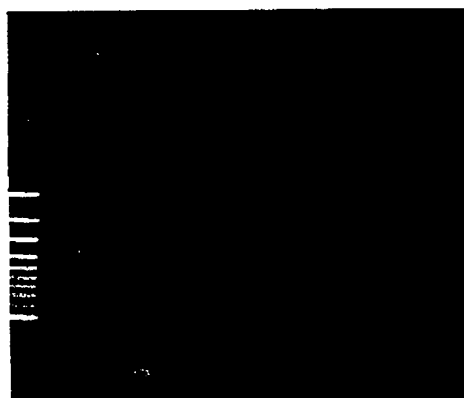
5 将从人类白血球抽取的去氧核糖核酸基因组以酒精加丙酮溶解之，再与溶于氯仿的聚碳酸酯充分混合后涂抹于塑胶膜上。干燥后放置于 40℃ 冰箱、阴暗处、或曝晒于阳光下一天后进行回收。回收时剪下少量的膜片，以氯仿溶解之，再以缓冲液充分混合并离心后取得澄清液。取少量澄清液做为模板进行聚合酶连锁反应。聚合酶连锁反应的产生物再经电泳分离后染色之。请参阅图谱 2，显示以聚碳酸酯为介质，人类基因组去氧核糖核酸为标记的实施例。由左至右 L1 为 100bp 去氧核糖核酸标准，L2 及 L3 为 10 L μ l 澄清液做为模板的结果，L4 及 L5 为 2 μ l 澄清液做为模板的结果，L6 为没加模板的负控制组，L7 为人类基因组去氧核糖核酸的正控制组。结果显示除了 L3 较不明显外，所有处理皆如所预期顺利回收 600bp 人类基因。

L1 L2 L3 L4 L5 L6 L7 L8



图谱 1

L1 L2 L3 L4 L5 L6 L7



图谱 2